

INDEKS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK RUMPUT LAUT COKLAT (*Sargassum aquifolium*)

Antioxidant Activity Index of Brown Seaweed (Sargassum aquifolium) Extract

Muhamad Firdaus

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

*Korespondensi: Jln. Veteran Malang, Lab. Biokimia Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, 65145,
Hp. 081332774099. E-mail: muhamadfir@yahoo.com

Diterima 1 April 2013/Disetujui 8 Mei 2013

Abstract

Antioxidant activity index was improved for standardization of the antioxidant activity strength on extracts or pure compounds. Development of this method based on reduction of diphenylpicrylhydrazyl radical by antioxidant substances. Brown seaweed has been known containing antioxidant compounds that it capable to reduce reactivity of free radical. The purpose of this study was to determine antioxidant activity index of *Sargassum aquifolium* extracts. *S. aquifolium* was obtained from the shoreline of Talango Island, Sumenep district. Sample was cleaned, washed, dried, powdered and macerated by ethanol, acetone 70%, methanol, ethanol 80%, methanol 80% and aquadest (1:3 w/v), respectively, three times on 4°C for 24 hours. Filtrate was combined, concentrated and dried to obtain extract. After that it was reacted against diphenylpicrylhydrazyl radical. Decreasing of radical absorbance was observed with spectrophotometer at 517 nm. The result showed that the inhibition concentration 50% of *S. aquifolium* methanols extract was the lower than the others. The antioxidant activity index of *S. aquifolium* methanol extract was 0.54. According to the antioxidant activity index, methanol extract of *S. aquifolium* was included a medium antioxidant and potential improved as antioxidant nutraceutical.

Keywords: antioxidant activity index, diphenylpicrylhydrazyl, extracts, *Sargassum aquifolium*

Abstrak

Indeks aktivitas antioksidan dikembangkan guna standarisasi kekuatan aktivitas antioksidan baik dari ekstrak maupun senyawa murni. Metode ini dikembangkan berdasar pereduksian radikal difenilpikrilhidrasil. Rumput laut coklat diketahui mempunyai komponen aktif yang bersifat antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan indeks aktivitas antioksidan ekstrak *Sargassum aquifolium*. *S. aquifolium* didapatkan dari perairan pantai pulau Talango, Kabupaten Sumenep. *S. aquifolium* dibersihkan, dicuci, dikeringkan, ditepungkan dan dimaserasi etanol, aseton 70%, metanol, etanol 80%, metanol 80%, dan air (1:3 b/v) tiga kali pada suhu 4°C selama 24 jam. Fitrat digabungkan, dipekatkan, dan dikeringkan untuk mendapatkan ekstrak. Ekstrak selanjutnya diuji kemampuannya dalam mereduksiradikal difenilpikrilhidrasil. Penurunan serapan radikaldifenil pikrilhidrasil diamati dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Hasil menunjukkan bahwa konsentrasi hambatan 50% ekstrak metanol *S. aquifolium* lebih kecil dibanding ekstrak lainnya. Indeks aktivitas antioksidan ekstrak metanol *S. aquifolium* sebesar 0,54. Berdasar indeks aktivitas antioksidan maka ekstrak metanol *S. aquifolium* tergolong antioksidan sedang dan berpotensi dikembangkan sebagai nutrasetikal beraktivitas antioksidan.

Kata kunci: difenilpikrilhidrasil, ekstrak, indeks aktivitas antioksidan, *Sargassum aquifolium*

PENDAHULUAN

Radikal bebas adalah senyawa aktif yang memiliki ion terluar tidak berpasangan. Senyawa ini diketahui sebagai penyebab kerusakan biomolekul dan penyebab penyakit degeneratif (Arouma 1998). Radikal bebas juga diketahui berperan terhadap peroksidasi lemak dalam pangan yang dapat menimbulkan bau tengik bahan pangan dan menurunkan mutunya. Penggunaan antioksidan diketahui dapat mencegah kerusakan sel tubuh dan komponen pangan (Choe dan Min 2005).

Penelitian tentang antioksidan bahan alam telah banyak dilakukan. Bioaktif yang banyak dipelajari sifat antioksidannya adalah polifenol (Rice-Evans *et al.* 1997; Hagerman *et al.* 1998; Villano *et al.* 2007). Rumput laut merupakan salah satu bahan alam yang mengandung polifenol. Senyawa aktif ini utamanya dikandung oleh rumput laut cokelat (Shibata *et al.* 2004; Firdaus *et al.* 2006; Nakai *et al.* 2006; Nahas *et al.* 2007; Ganesan *et al.* 2008; Chandini *et al.* 2008; Chew *et al.* 2008; Wang *et al.* 2009).

Eiklonia stolonifera, *Eisenia bicyclis*, *Sargassum kjelmannianum*, *S. siliquastrum*, dan *S. microcantum* telah diuji aktivitas antioksidannya, seperti kemampuannya dalam menghambat peroksidasi lemak dan spesies oksigen reaktif (*Reactive Oxygen species* = ROS) dengan mendonorkan protonnya sehingga mempercepat proses terminasi radikal bebas (Wei *et al.* 2003; Kang *et al.* 2004; Firdaus *et al.* 2010). Jimenez-Escrig *et al.* (2001), Raghavendran *et al.* (2005) dan Heo *et al.* (2005) menunjukkan bahwa ekstrak rumput laut cokelat dapat mencegah kerusakan LDL, DNA, dan peroksidasi lemak pada sel hati.

Metode penentuan kapasitas aktivitas antioksidan telah banyak dikembangkan, yaitu *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), *Oxygen Radical Absorbance Capacity* (ORAC), *Electron Spin Resonance* (ESR), 2,2-azinobis 3 ethyl-benzothiazoline-6-sulphonate (ABTS) dan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), namun metode yang paling banyak digunakan

dalam pengujian dan kemampuan aktivitas antioksidan suatu ekstrak atau senyawa adalah metode DPPH (Scherer dan Godoy 2009).

Hasil uji metode DPPH dapat ditampilkan dalam berbagai model, yaitu persentase hambatan, persentase DPPH tersisa, aktivitas antiradikal, dan aktivitas antioksidan setara dengan asam askorbat, namun di antara metode ini, penyajian hasil uji paling banyak berupa persentase hambatan 50%. Ketiadaan standarisasi hasil pengujian metode ini menyulitkan untuk membandingkan kemampuan dan kekuatan antioksidan dari ekstrak maupun senyawa murni. Indeks aktivitas antioksidan (IAA) merupakan salah satu metode untuk menstandarisasi hasil pengujian antioksidan berdasar metode DPPH. Penelitian ini dilakukan untuk menentukan kapasitas antioksidan ekstrak rumput laut cokelat (*S. aquifolium*) berdasar IAA.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Rumput laut cokelat (*S. aquifolium*) didapatkan dari perairan Pulau Talango, Kabupaten Sumenep, Jawa Timur. Aseton p.a., etanol p.a., metanol p.a. dan DPPH dari Merck. Spektrofotometer merk Spectronic-20, Bausch & Lomb digunakan untuk mengukur reduksi serapan radikal DPPH.

Ekstrak rumput laut cokelat (*S. aquifolium*) didapatkan berdasarkan metode Koivikko *et al.* (2005) yang dimodifikasi yakni maserasi, sentrifugasi, dan pemekatan. Ekstrak yang didapat selanjutnya diuji aktivitas antioksidannya secara *in vitro* menggunakan radikal DPPH (Brand-Williams *et al.* 1995). Larutan 0,05 mM DPPH sebanyak 1,0 mL dicampur dengan 3,0 mL ekstrak terlarut metanol. Nilai serapan sesaat setelah pencampuran larutan DPPH dengan ekstrak dinyatakan sebagai absorbansi $t=0$, sementara itu absorbansi $t=30$ merupakan hasil pembacaan serapan pada menit ke-30. Nilai persentase aktivitas *scavenging* radikal (% RSA) didapatkan berdasar rumus:

$$\% \text{ RSA} = \frac{\text{Abs}_{t=0} - \text{Abs}_{t=30}}{\text{Abs}_{t=0}} \times 100 \%$$

Konsentrasi hambatan 50% (IC_{50}) dihitung dengan perangkat lunak GraphPad Prism versi 5 berdasar hubungan konsentrasi ekstrak dengan persentase RSA. Konsentrasi akhir DPPH didapat dari konsentrasi DPPH tersisa pada menit ke-30. Indeks aktivitas antioksidan ditentukan dengan rumus:

$$\text{IAA} = \frac{\text{konsentrasi akhir DPPH } (\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1})}{\text{IC}_{50} (\mu\text{g} \times \text{mL}^{-1})}$$

Kapasitas aktivitas antioksidan suatu ekstrak atau senyawa berdasar IAA dapat terbagi menjadi 4, yaitu $\text{IAA} < 0,5$ artinya aktivitas antioksidan rendah, $\text{IAA} 0,5-1$ yang berarti aktivitas antioksidan sedang, $\text{IAA} 1-2$ yang bermakna aktivitas antioksidan kuat dan $\text{IAA} > 2$ artinya aktivitas antioksidan sangat kuat (Scherer dan Godoy 2009).

Data hasil penelitian dinyatakan sebagai rerata dan simpangan baku. Data persentase pemungutan radikal dianalisis keragamannya secara satu arah dan perbedaan antar perlakuan diuji dengan beda nyata terkecil. Tingkat kepercayaan yang digunakan adalah sebesar $\alpha = 1\%$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis data menunjukkan bahwa ekstrak *S. aquifolium* dan konsentrasinya berpengaruh sangat nyata terhadap persentase pemungutan radikal ($p < 0,01$). Persentase pemungutan radikal dari berbagai ekstrak *S. aquifolium* dan konsentrasinya disajikan pada Gambar 1, sementara itu konsentrasi DPPH tersisa, IC_{50} dan IAA berbagai ekstrak *S. aquifolium* disajikan pada Tabel 1.

Ekstrak metanol mempunyai persentase pemungutan radikal paling besar dibanding ekstrak lainnya (Gambar 1). Hal ini dimungkinkan karena metanol sebagai pelarut ekstrak mempunyai sifat lebih memudahkan pemindahan proton (atom hidrogen) ekstrak ke radikal bebas dari DPPH. Valgimigli *et al.* (1995), Brand-Williams *et al.* (1995), dan Prior

et al. (2005) menjelaskan bahwa metanol adalah senyawa polar yang mudah memposisikan atom hidrogen dari suatu senyawa atau gugus hidroksil untuk membentuk ikatan hidrogen karena adanya ikatan ini akan memudahkan perpindahan proton (atom hidrogen antioksidan) ke radikal bebas.

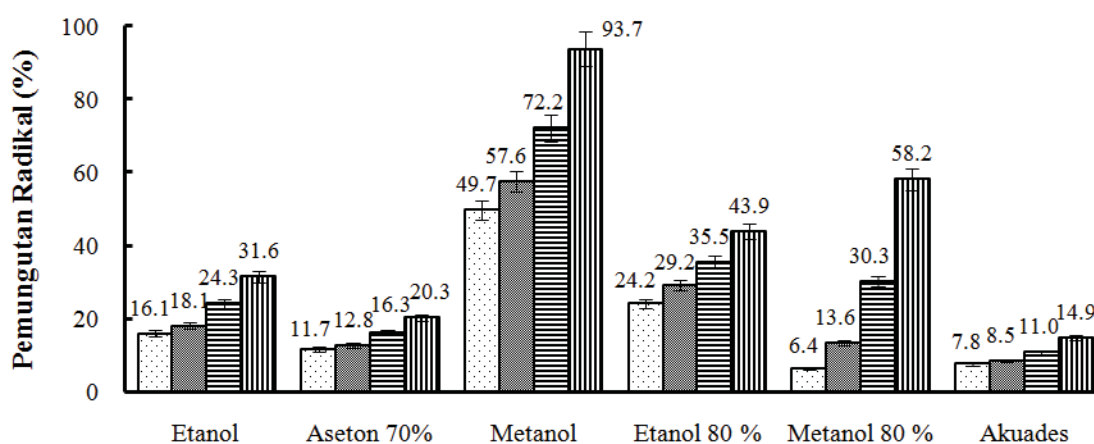
Makin besar konsentrasi ekstrak *S. aquifolium*, aktivitas pemungutan terhadap radikal bebas makin besar (Gambar 1). Hal ini kemungkinan terjadi karena keberadaan gugus hidroksil yang terlarut dalam metanol lebih banyak dibanding dalam ekstrak yang terlarut dalam berbagai pelarut. Shahidi dan Wanasudara (1992) menjelaskan bahwa suatu aktivitas pemungutan radikal bebas oleh senyawa fenol mengikuti hukum atau aturan hubungan struktur-aktivitas, maka senyawa fenol yang mempunyai gugus hidroksil lebih banyak akan mudah melakukan ikatan hidrogen dengan radikal bebas.

Konsentrasi hambatan efektif 50% dari metanol paling kecil dibanding ekstrak *S. aquifolium* lainnya (Tabel 1), artinya dengan konsentrasi tersebut ekstrak sudah dapat menurunkan konsentrasi radikal bebas (DPPH) hingga tinggal 50%. Efektivitas ini kemungkinan terjadi karena polifenol *S. aquifolium* yang terlarut dalam metanol mempunyai struktur gugus hidroksil yang banyak dan paling efektif untuk memindahkan atom hidrogennya ke radikal bebas. Valgimigli *et al.* (1995) menegaskan bahwa efektivitas penurunan radikal bebas oleh polifenol akan dipengaruhi banyaknya gugus hidroksil pada senyawa tersebut dan terjadinya pemindahan atom hidrogen polifenol pada radikal yang terlebih dahulu terbentuk ikatan hidrogen antara atom hidrogen dari gugus hidroksil polifenol dengan radikal bebas.

Indeks aktivitas antioksidan metanol paling besar dibanding ekstrak *S. aquifolium* lainnya (Tabel 1). Hal serupa juga dilaporkan oleh Firdaus *et al.* (2006) bahwa efisiensi radikal bebas ekstrak rumput laut dalam metanol mempunyai nilai paling besar. Prior *et al.* (2005) menegaskan bahwa efektivitas

Tabel 1 IC₅₀ dan IAA dari ekstrak *S. aquifolium*

Ekstrak	IC ₅₀	IAA
Etanol	2048,0810	0,0175
Aseton 70%	4065,6250	0,0088
Metanol	66,1554	0,5419
Etanol 80%	1260,9660	0,0284
Metanol 80%	851,4833	0,0421
Akuades	5381,2750	0,0067



Gambar 1 Persentase pemungutan radikal dari berbagai ekstrak dan konsentrasinya: (.....) 100 ppm, (■) 200 ppm, (▨) 500 ppm, (▩) 1000 ppm.

dan kekuatan aktivitas antioksidan ditentukan oleh kemampuan untuk memindahkan atom hidrogen maupun pemindahan elektron tunggal. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak rumput laut jenis yang terlarut dalam metanol mempunyai kapasitas pemindahan atom hidrogen dan elektron tunggal ke radikal bebas lebih efektif. Berdasarkan indeks aktivitas antioksidan dapat dinyatakan bahwa ekstrak metanol *S. aquifolium* dapat digolongkan sebagai antioksidan yang berkekuatan sedang dan ekstrak lainnya termasuk lemah, oleh karena itu walau masih berupa ekstrak, ekstrak ini dapat berpotensi dikembangkan sebagai komponen pangan fungsional atau nutrasetikal yang beraktivitas antioksidan.

KESIMPULAN

Ekstrak metanol *S. aquifolium* mempunyai aktivitas penghambat radikal bebas paling besar dan berindeks aktivitas antioksidan

sebesar 0,54. Berdasar aturan indeks aktivitas antioksidan, maka ekstrak metanol *S. aquifolium* tergolong bahan beraktivitas antioksidan sedang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (DP2M), Direktorat Perguruan Tinggi melalui program Hibah Bersaing tahun 2009.

DAFTAR PUSTAKA

- Arouma OI. 1998. Free radical, oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists Society* 75: 199-212.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 28: 25-30.
- Chandini SK, Ganesan P, Bhaskar N. 2008. In vitro antioxidant activities of three

- selected brown seaweeds of India. *Food Chemistry* 107: 707-713.
- Chew YL, Lim YY, Omar M, Khoo KS. 2008. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *Libbensmittel-Wissenschaft und Technology* 41: 1067-1072.
- Choe E, Min DB. 2005. Chemistry and reactions of reactive oxygen species in foods. *Journal of Food Science* 70: 142-159.
- Firdaus M, Astawan M, Muchtadi D, Wresdiyati T, Waspadi S, Karyono SS. 2006. Efisiensi antiradikal florotanin *Sargassum polycystum* dan *Sargassum echinocarpum* yang terlarut dalam berbagai pelarut polar. *Jurnal Penelitian Perikanan* 9: 157-161.
- Firdaus M, Astawan M, Muchtadi D, Wresdiyati T, Waspadi S, Karyono SS. 2010. Prevention of endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by *Sargassum echinocarpum* extract. *Med J Indonesia* 19: 32-35.
- Ganesan P, Kumar CS, Bhaskar N. 2008. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource Technology* 99: 2717-2723.
- Hagerman AE, Riedl KM, Jones A, Sovik KN, Ritchard NT, Hartzfeld PW, Riechel TL. 1998. High molecular weight plant polyphenolics (Tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 1887-1892.
- Heo SJ, Park EJ, Lee KW, Jeon YJ. 2005. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresource Technology* 96: 1613-1623.
- Jimenez-Escrig A, Jimenez-Jimenez I, Pulido R, Saura-Calixto F. 2001. Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81: 530-534.
- Kang HS, Chung HY, Kim JY, Son BW, Jung HA, Choi JS. 2004. Inhibitory phlorotannins from the edible brown alga *Ecklonia stolonifera* on total reactive species (ROS) generation. *Arc Pharmacol Res* 27: 194-198.
- Koivikko R, Poponen J, Honkanen T, Jormalainen V. 2005. Contents of soluble cell-wall-bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implications on their ecological functions. *Journal of Chemical Ecology* 31: 195-212.
- Nahas R, Abatis D, Anagnostopoulou MA, Kefalas P, Vagias C, Ruossis V. 2007. Radical-scavenging activity of Aegean sea marine algae. *Food Chemistry* 102: 577-581.
- Nakai M, Kageyama N, Nakahara K, Miki W. 2006. Phlorotannins as radical scavengers from the extract of *Sargassum ringgoldianum*. *Marine Biotechnology* 8: 409-414.
- Prior RL, Wu X, Schaich K. 2005. Standarized method for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 4290-4302.
- Raghavendran HRB, Sathivel A, Devaki T. 2005. Protective effect of *Sargassum polycystum* (brown alga) against acetaminophen-induced lipid peroxidation in rats. *Phytotherapy Research* 19: 113-115.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trend in Plant Science* 2: 152-159.
- Scherer R, Godoy HT. 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry* 112: 654-658.
- Shahidi F, Wanasudara PKJPD. 1992. Phenolic antioxidants. *Crit rev. Food Science and Nutrition* 32: 67-103.
- Shibata T, Kawaguchi S, Hama Y, Inagaki M, Yamaguchi K, Nakamura T. 2004. Local and chemical distribution of phlorotannins in brown algae. *J Appl Phycol* 16: 291-296.
- Valgimigli L, Banks JT, Lusztyk J, Ingold KU. 1995. Kinetic solvent effects on

- hydroxylic hydrogen atom abstractions are independent of the nature of the abstracting radical. Two extreme tets using vitamin E and phenol. *Journal of American Chemical Society* 117: 9966-9971.
- Villano D, Fernandez-Pachon MS, Moya ML, Troncoso AM, Garcia-Parilla MC. 2007. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta* 71: 230-235.
- Wang T, Jonsdottir R, Olafsdottir G. 2009. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweed. *Food Chemistry* 116: 240-248.
- Wei Y, Li Z, Hu Y, Xu Z. 2003. Inhibition of mouse liver lipid peroxidation by high molecular weight phlorotannins from *Sargassum kjelmanianum*. *Journal of Applied Phycology* 15: 507-511.